

?s an,pn=jp 57137858

0 AN=JP 57137858

3 PN=JP 57137858

S1 3 AN,PN=JP 57137858

?t s1/9/all

1/9/1 (Item 1 from file: 351)

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI

(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

003536326

WPI Acc No: 1982-84319E/\*198240\*

**Triglyceride determ. in body fluids, etc., e.g. serum - by analysing glycerol formed from the triglyceride after first decomposing reducing substances and free glycerol present**

Patent Assignee: WAKO PURE CHEM IND LTD (WAKP )

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 57137858	A	19820825				198240 B

Priority Applications (No Type Date): JP 8123745 A 19810220

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 57137858	A	7		

Abstract (Basic): JP 57137858 A

Determn. of triglyceride in a biological sample (e.g. blood serum) by analysing glycerol formed quantitatively from triglyceride in the sample, comprises first decomposing reducing substances (e.g. ascorbic acid, glutathione, uric acid, bilirubin, etc.) and free glycerol present together with triglyceride in the sample under conditions of 0.0005-0.003 M/l. periodic acid concn. and pH 0-3.5, and determining the glycerol formed quantitatively from the triglyceride in the sample.

Triglyceride can be accurately determined without interference from glycerol and reducing substances present in the sample.

Title Terms: TRI; GLYCERIDE; DETERMINE; BODY; FLUID; SERUM; ANALYSE; GLYCEROL; FORMING; TRI; GLYCERIDE; AFTER; FIRST; DECOMPOSE; REDUCE; SUBSTANCE; FREE; GLYCEROL; PRESENT

Index Terms/Additional Words: PERIODIC; ACID

Derwent Class: B04; J04

International Patent Class (Additional): C12Q-001/00; G01N-033/52

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-B04D; B05-C07; B10-G02; B11-C08; B12-K04; J04-B01B

Chemical Fragment Codes (M1):

\*02\* M423 M760 M903 N102 P831 Q435 V600 V614

Chemical Fragment Codes (M2):

\*01\* J0 J013 J2 J273 M210 M211 M212 M213 M214 M215 M216 M220 M221 M222 M223 M224 M225 M231 M232 M233 M262 M283 M320 M416 M620 M750 M903 N102 P831 Q435

\*03\* C053 C101 C108 C300 C730 C800 C801 C804 C805 C807 M411 M781 M903 P831 Q503

Chemical Fragment Codes (M6):

\*04\* M903 P831 Q435 R305 R515 R611 R627 R639

1/9/2 (Item 1 from file: 345)

DIALOG(R)File 345:Inpadoc/Fam.& Legal Stat

(c) 2001 EPO. All rts. reserv.

3906949

Basic Patent (No,Kind,Date): JP 57137858 A2 820825 <No. of Patents: 001>

PATENT FAMILY:

JAPAN (JP)

Patent (No,Kind,Date): JP 57137858 A2 820825

QUANTITATIVE MEASURING METHOD FOR TRIGLYCERIDE (English)  
Patent Assignee: WAKO PURE CHEM IND LTD  
Author (Inventor): YAMANISHI KAZUHIKO; HANADA TOSHIRO; KATO TORU  
Priority (No,Kind,Date): JP 8123745 A 810220  
Applic (No,Kind,Date): JP 8123745 A 810220  
IPC: \* G01N-033/52; C12Q-001/00; G01N-033/50  
CA Abstract No: \* 97(25)212064B  
Derwent WPI Acc No: \* C 82-84319E  
JAPIO Reference No: \* 060237P000137  
Language of Document: Japanese

1/9/3 (Item 1 from file: 347)  
DIALOG(R)File 347:JAPIO  
(c) 2001 JPO & JAPIO. All rts. reserv.

00987558  
QUANTITATIVE MEASURING METHOD FOR TRIGLYCERIDE

PUB. NO.: 57-137858 A]  
PUBLISHED: August 25, 1982 (19820825)  
INVENTOR(s): YAMANISHI KAZUHIKO  
HANADA TOSHIRO  
KATO TORU  
APPLICANT(s): WAKO PURE CHEM IND LTD [351724] (A Japanese Company or  
Corporation), JP (Japan)  
APPL. NO.: 56-023745 [JP 8123745]  
FILED: February 20, 1981 (19810220)  
INTL CLASS: [3] G01N-033/52; C12Q-001/00; G01N-033/50  
JAPIO CLASS: 46.2 (INSTRUMENTATION -- Testing); 14.5 (ORGANIC CHEMISTRY --  
Microorganism Industry); 28.2 (SANITATION -- Medical)  
JOURNAL: Section: P, Section No. 157, Vol. 06, No. 237, Pg. 137,  
November 25, 1982 (19821125)

#### ABSTRACT

PURPOSE: To eliminate a measuring error, by measuring glycerol generated from triglyceride quantitatively after decomposing free glycerol and reductive substances coexisting with triglyceride in a living body sample by periodic acid and removing them.

CONSTITUTION: Free glycerol coexisting with triglyceride and reductive substances such as ascorbic acid, glutathione, urea, bilirubin, in a living body sample are decomposed by 0.0005-0.003M/l periodic acid at 0-3.5pH and after that, triglyceride is decomposed into glycerol and fatty acids by polyprotein lipase. Quantitatively produced hydrogen peroxide by reacting peroxidase on produced glycerol is reacted on a coloring reagent to be oxidizable under the existence of peroxidase and triglyceride is measured by a colorimetric measurement. By this method, it is decomposed and is removed perfectly even when 30mg/dl free glycerol exists.

?s an,pn=jp 5911197  
0 AN=JP 5911197  
0 PN=JP 5911197  
S2 0 AN,PN=JP 5911197  
?s an,pn=jp 59011197  
0 AN=JP 59011197  
3 PN=JP 59011197  
S3 3 AN,PN=JP 59011197  
?t s3/9/all

3/9/1 (Item 1 from file: 351)  
DIALOG(R)File 351:Derwent WPI  
(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

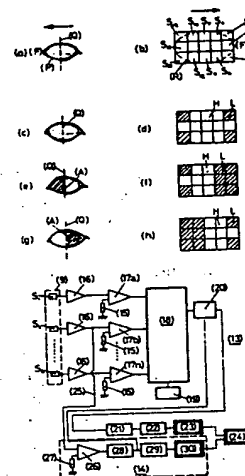
003907059  
WPI Acc No: 1984-052604/\*198409\*  
Related WPI Acc No: 1983-823707  
XRAM Acc No: C84-022178  
XRPX Acc No: N84-039692

## (54) CRACKED GRAIN DETECTING DEVICE

- (11) 57-137857 (A) (43) 25.8.1982 (19) JP  
 (21) Appl. No. 56-24546 (22) 20.2.1981  
 (71) SATAKE SEISAKUSHO K.K. (72) TOSHIHIKO SATAKE(1)  
 (51) Int. Cl. G01N33/10, G01N21/88

**PURPOSE:** To calculate the proportion of cracked grains automatically with high precision, by detecting the variance of the quantity of a light transmitting through a grain by plural photodetectors and calculating the number of cracked grains and the total number of grains on the basis of the variance of the image pattern and the grain detection signal of a specific photodetector.

**CONSTITUTION:** A reference brightness of the central transparent part of a sample grain is set to setting equipments 15 provided in comparators 17a~17n of a counter circuit 13 for cracked grains, and a prescribed voltage corresponding to a brightness for discriminating the background and grains from each other is set to a setting equipment 28 of a comparator 27 on the side of a counter circuit 14 for the number of grains. When the same grain passes through a slit part of the light transmitting window of the bottom part of a conduit from a supply hopper, the transmitted light is magnified and is projected onto the photodetecting face of a photodetector 9. The photodetector 9 has 15 elements  $S_1 \sim S_{15}$ , and it is discriminated by a CPU18 whether the brightness pattern of each element is the pattern of a regular grain (d) or the pattern of a cracked grain (f) or (h). The result is counted by counters 22 and 29 to display the proportion of cracked grains on a digital display device 24, thus calculating the proportion of cracked grains accurately and rapidly with high precision.



## (54) QUANTITATIVE MEASURING METHOD FOR TRIGLYCERIDE

- (11) 57-137858 (A) (43) 25.8.1982 (19) JP  
 (21) Appl. No. 56-23745 (22) 20.2.1981  
 (71) WAKO JUNYAKU KOGYO K.K. (72) KAZUHIKO YAMANISHI(2)  
 (51) Int. Cl. G01N33/52, C12Q1/00, G01N33/50

**PURPOSE:** To eliminate a measuring error, by measuring glycerol generated from triglyceride quantitatively after decomposing free glycerol and reductive substances coexisting with triglyceride in a living body sample by periodic acid and removing them.

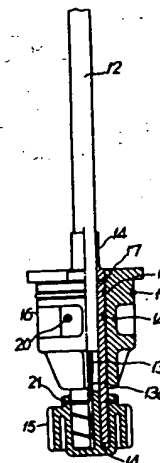
**CONSTITUTION:** Free glycerol coexisting with triglyceride and reductive substances such as ascorbic acid, glutathione, urea, bilirubin, in a living body sample are decomposed by 0.0005~0.003M/l periodic acid at 0~3.5pH and after that, triglyceride is decomposed into glycerol and fatty acids by polyprotein lipase. Quantitatively produced hydrogen peroxide by reacting peroxidase on produced glycerol is reacted on a coloring reagent to be oxidizable under the existence of peroxidase and triglyceride is measured by a colorimetric measurement. By this method, it is decomposed and is removed perfectly even when 30mg/dl free glycerol exists.

## (54) ROTATION TRANSFER DEVICE FOR SPEEDOMETER

- (11) 57-137859 (A) (43) 25.8.1982 (19) JP  
 (21) Appl. No. 56-22881 (22) 20.2.1981  
 (71) NISSAN JIDOSHA K.K. (1) (72) TAKASADA TAKAHASHI(1)  
 (51) Int. Cl. G01P1/04

**PURPOSE:** To reduce the number of parts and facilitate assembling, by connecting directly a pinion and an inner cable and fitting and fixing an outer cable to a mouthpiece fixed to a sleeve, in a rotation transfer device for a car.

**CONSTITUTION:** A hollow cylinder-shaped mouth piece 14 is fitted and fixed to the end part of an outer cable 12 throughout a comparatively longer range. A tip part 13a of an inner cable 13 is formed into an angular rod and is inserted into a nylon pinion 15. The mouthpiece 14 is inserted into the pinion 15. The whole of these parts is fitted to a transmission by a sleeve 16. The rotation of the pinion 15 driven by a worm gear in the transmission is transferred to the inner cable. The mouthpiece and the outer cable are stationary and are rotated in accordance with the rotation of the pinion, and a lubricant is supplied to this part sufficiently. Since the outer cable, the mouthpiece, and the sleeve are fitted to one another in a long range, oil leakage does not occur.



⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57-137858

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>  
G 01 N 33/52  
C 12 Q 1/00  
G 01 N 33/50

識別記号

庁内整理番号  
6422-2G  
6543-4B  
6422-2G

⑭ 公開 昭和57年(1982)8月25日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑮ トリグリセライドの定量方法

川越市大字南大塚784番地南ハ  
イツ103号

⑯ 特 願 昭56-23745

⑰ 発 明 者 加藤透

⑱ 出 願 昭56(1981)2月20日

東京都世田谷区三宿2丁目19番  
地3号柳谷荘5号

⑲ 発 明 者 山西一彦

⑳ 出 願 人 和光純薬工業株式会社

東京都板橋区赤塚3丁目17番10  
号

大阪市東区道修町3丁目10番地

㉑ 発 明 者 花田寿郎

明 細 書

1. 発明の名称

トリグリセライドの定量方法

2. 特許請求の範囲

生体試料中のトリグリセライドから定量的に生成したグリセリンを測定することによりトリグリセライドを定量する方法に於て、生体試料中にトリグリセライドと共存する遊離のグリセリンと還元性物質を過ヨウ素酸濃度0.0005～0.003M/l、pH0～3.5に於て予め分解した後生体試料中のトリグリセライドから定量的に生成したグリセリンを測定することを特徴とする、生体試料中のトリグリセライドの定量方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は生体試料中のトリグリセライドの定量方法に関する。更に詳記すれば、生体試料中にトリグリセライドと共存する遊離のグリセリンとア

スコルビン酸、グルタチオン、尿酸、ビリルビンなどの還元性物質を過ヨウ素酸により酸化分解した後、トリグリセライドを例えばリポプロテインリパーゼでグリセリンと脂肪酸に分解し、ここに生じたグリセリンを例えばグリセロキナーゼとアデノシン三リン酸でグリセロール-3-リン酸とし、これにグリセロール-3-リン酸オキシダーゼを作用させるか又は生じたグリセリンにグリセリンオキシダーゼを作用させることにより定量的に生成した過酸化水素を例えばペルオキシダーゼの共存下で被酸化性呈色試薬と反応させ生じた呈色を比色測定することにより、生体試料中に共存するグリセリン及び還元性物質の妨害を受けずに正確にトリグリセライドを定量できる方法に関する。生体試料とくに血清中のトリグリセライドは動脈硬化症や心筋動脈疾患、肝疾患など脂質代謝異常に起因する疾患で異常を示すことから、診断

の指標として日常臨床検査に広くとり入れられている。定量方法としては特異性、迅速性の面から酵素反応を利用して最終的にトリグリセライドと当量の過酸化水素を生成させてペルオキシダーゼの共存下で被酸化性呈色試薬を酸化し発色させて比色定量する方法が主として用いられている。しかしこの方法に限らず、従来の生体試料中のトリグリセライドから定量的に生成したグリセリンを測定することによりトリグリセライドを定量する方法は生体試料中に共存する遊離のグリセリンが正誤差を与え、グリセリンを酸化還元反応を利用して測定する場合は還元性物質が負誤差を与えるため、正確なトリグリセライドの定量ができない欠点があつた。遊離グリセリンによる正誤差を除く方法としては、生体試料にグリセロールキナーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、アデノシン三リン酸及び4-アミノ

- 3 -

に調節すれば、遊離グリセリン、ビリルビン及びその他の還元性物質が同時に分解除去でき、しかもトリグリセライドの定量には、何等支障を与えないことを発見し本発明を完成するに至つた。グリセリンが中性〜弱酸性で過ヨウ素酸により定量的に酸化分解されることは公知であり、グリセリンの定量法に利用されている。本発明者らは、遊離のグリセリンと還元性物質を同時に過ヨウ素酸を用いて酸化分解する条件を探索した結果、pH 0.5〜4に於いて、過ヨウ素酸濃度 0.0005〜0.003 M/l で処理することにより遊離グリセリン及び還元性物質を同時に分解除去できることを発見した。

即ち、本発明は、生体試料中のトリグリセライドから定量的に生成したグリセリンを測定することによりトリグリセライドを定量する方法に於て、生体試料中にトリグリセライドと共存する遊離

アンチピリンを含む試薬を加えて反応させることにより遊離のグリセリンを分解除去した後、リボプロテインリパーゼとトリイジン誘導体からなる試薬を加えてトリグリセライドを定量する方法が開発されているが、還元性物質の影響を受ける欠点がある。また、ビリルビンの妨害除去の方法としては予め過酸化水素とペルオキシダーゼを含む試薬を試料に加えてビリルビンを酸化分解した後残留する過酸化水素をカタラーゼで除いてからトリグリセライドを測定する方法が開発されている。しかしながら遊離グリセリンと還元性物質を同時に分解除去することは、困難であつた。本発明者らは、従来法におけるこれらの欠点を解消すべく鋭意研究の結果、0.0005〜0.003 M/l の濃度で過ヨウ素酸を使用することにより酸性〜中性の液性に於て、遊離グリセリンを分解除去することができ、更に反応時の液性を pH 0.5〜3

- 4 -

のグリセリンと還元性物質を過ヨウ素酸濃度 0.0005〜0.003 M/l、pH 0〜3.5に於て予め分解した後生体試料中のトリグリセライドから定量的に生成したグリセリンを測定することの特徴とする、生体試料中のトリグリセライドの定量方法である。

生体試料中のトリグリセライドから定量的にグリセリンを生成させるためには自体公知の方法例えばトリグリセライドをリボプロテインリパーゼの作用により定量的にグリセリンと脂肪酸に分解する等によればよい。

グリセリンを測定するためには自体公知の方法例えばグリセリンをアデノシン三リン酸の存在下グリセロールキナーゼの作用で定量的にグリセロール-3-リン酸としこれにグリセロール-3-リン酸オキシダーゼを作用させるか又はグリセリンにグリセリンオキシダーゼを作用させることにより

- 6 -

定量的に生成した過酸化水素を測定する等によればよい。

過酸化水素は自体公知の方法例えばこれをペルオキシダーゼの作用により被酸化性呈色試薬と定量的に反応させ生じた呈色を比色測定する等により測定すればよい。

本発明は例えば次のようにして容易に実施することができる。

以下余白

- 7 -

しにくいので正確なトリグリセライド値を得ることはできない。別表1に過ヨウ素酸によるビリルビン分解に於けるPHの効果を示す。PH 0.5~4に於いては過ヨウ素酸の酸化力が強められ例えばPH 2.8、過ヨウ素酸 0.002M/βでは、1~3分間で遊離グリセリン及び還元性物質は完全に分解できる。通常人血清中の遊離グリセリンは約1~5 mg/dl 含有されているが本発明の方法によれば、遊離グリセリンが30 mg/dl 存在しても完全に分解除去することができる。

過酸化水素とペルオキシダーゼを用いる呈色反応は、通常PH 7~8で行われるので過ヨウ素酸の酸化力は、抑制されるため、発色反応における試薬盲検値は過ヨウ素酸を使用しない場合に比べて有意差は無い(別表2)またグリセリンは過ヨウ素酸により酸化されてホルムアルデヒドとギ酸を生成するが酵素反応による発色系には、全く影

- 9 -

特開昭57-137858(3)

即ち、例えば、生体試料中にトリグリセライドと共存する遊離のグリセリンとアスコルビン酸、グルタチオン、尿酸、ビリルビンなどの還元性物質を過ヨウ素酸により酸化分解した後、トリグリセライドをリポ蛋白質リパーゼでグリセリンと脂肪酸に分解し、ここに生じたグリセリンをグリセロキナーゼとアデノシン三リン酸でグリセロール-3リン酸としこれにグリセロール-3リン酸オキシダーゼを作用させるか、又は生じたグリセリンにグリセリンオキシダーゼを作用させることにより定量的に生成した過酸化水素をペルオキシダーゼの共存下で被酸化性呈色試薬と反応させ生じた呈色を比色測定することによりトリグリセライドを定量する。この場合、過ヨウ素酸濃度 0.005~0.003M/βで前処理(酸化分解処理)を行う。前処理の液性は、PH 0~3.5である。PH 4以上に於ては、還元性物質、特にビリルビンが分解

- 8 -

響を及ぼさない。

別表 1

過ヨウ素酸による処理PHとビリルビン残留量 (mg/dl)

試料 No.	PH	1.5	2.04	2.96	3.98	4.94	6.06	6.99	7.99
1 (T.B.I. 9.94 mg/dl)		0	0.69	0.34	1.03	1.03	0.52	0.52	1.21
2 (T.B.I. 24.04 mg/dl)		0.17	2.93	1.55	6.03	6.03	6.38	6.90	7.93

(注)

(1) ビリルビンの測定はアルカリアゾビリルビン法による。

(2) 過ヨウ素酸濃度は 0.0018 M/β のものを用い試料 20 μl に 0.6 ml を加えて3分間 37°C で反応させた。

別表 2

発色時のPHによる試薬盲検値の変動例

経過時間	PH	0 min	10 min	30 min	60 min
6.51	+	0.045	0.048	0.050	0.056
	-	0.023	0.024	0.026	0.028

- 10 -

7.33	+	0.026	0.029	0.034	0.039
	-	0.016	0.018	0.022	0.023
8.50	+	0.060	0.063	0.073	0.087
	-	0.055	0.058	0.067	0.076

(注)

(1) 経過時間は発色試液を添加後吸光度測定までの時間を示す。

(2) 表内数値は505nmにおける吸光度(セル厚10mm)を示す。

(3) 過ヨウ素酸<sup>+</sup>は0.0018 M/8 過ヨウ素酸 0.6mlを用いたことを示す。ーは蒸留水 0.6mlを用いた。

発色試液は2.5mlを用いた。

(4) 被酸化性呈色試薬は4-アミノアンチピリン、3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾン、p-アミノジフェニルアミンなどが、またカブラーとしてはN,N-ジメチルアニリン、N,N-ジエチルアニリン、3-メチル-N-エチル-N-ヒドロキシエチルアニリンなどのN-置換アニリン誘導体あるいはフェノール、p-クロロフェノール、p-クロロフェノールスルホン酸、2,4-ジクロロフェノールなどのフェノール系化合物あるいは $\alpha$ -ナフトール、4-クロル-1-ナフトール-2-スルホン酸などのナフトール誘導体を用いることができ、これらデイベラバーとカブラーの種々の組合せが用いられる。被酸化性呈色試薬としては、前記

- 11 -

の化合物に限定されないことは勿論である。

以下余白



無機酸類のほか、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、乳酸等の有機酸類あるいはこれらの混合物などを用いることができる。

被酸化性呈色試薬としては、公知の例として、デイベラバーとして4-アミノアンチピリン、3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾン、p-アミノジフェニルアミンなどが、またカブラーとしてはN,N-ジメチルアニリン、N,N-ジエチルアニリン、3-メチル-N-エチル-N-ヒドロキシエチルアニリンなどのN-置換アニリン誘導体あるいはフェノール、p-クロロフェノール、p-クロロフェノールスルホン酸、2,4-ジクロロフェノールなどのフェノール系化合物あるいは $\alpha$ -ナフトール、4-クロル-1-ナフトール-2-スルホン酸などのナフトール誘導体を用いることができ、これらデイベラバーとカブラーの種々の組合せが用いられる。被酸化性呈色試薬としては、前記

- 12 -

以下に実施例を述べる。

#### 実施例

前処理液: 過ヨウ素酸 ( $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 0.04gを蒸留水に溶かして100mlとする(0.00175 M/l)。pHは2.87である。

発色試液: リボプロテインリパーゼ3500単位、グリセロキナーゼ200単位、グリセロール-3-リン酸オキシゲナーゼ120単位、ペルオキシゲナーゼ200単位、イデノシンエリン酸ナトリウム100mg、4-アミノアンチピリン9mg、p-クロロフェノール70mg、酢酸マグネシウム4mM、トリトンX405 (Rohm and Haas Co) 20mgをpH 7.5の0.05Mトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン緩衝液に溶かして100mlとする。

血清トリグリセライドの測定操作法: 血清20 $\mu$ lをヒリ前処理液0.6mlを加えて37°C恒温

水槽中に3分間放置後、発色試液2.5 ml を加えて10分間、37℃恒温水槽中に放置した後蒸留水を対照として505 nm に於ける吸光度を測定する。血清20  $\mu$ l の代りに蒸留水20  $\mu$ l をとり、上記と同様に操作し、505 nm の吸光度を測定する(試薬ブランク)。トリオレインSはトリパルミチン200 mg にトリトンX100 (Rohm and Haas Co.) 3 ml を加え加温溶解した後水を加えて激しく攪拌分散乳化させて100 ml としたものを標準液とし、その20  $\mu$ l をとり、血清と同様に操作して吸光度を測定する。

血清の吸光度、標準液の吸光度からそれぞれ試薬ブランクの吸光度を差引いた吸光度の比から血清試料中のトリグリセライド値を算出する。

結果を第1表～第4表に示す。第3表には本発明に係る方法と従来法による同一試料の比較測定値が、第1図には両方の相関図が示されている。

— 15 —

(注)経過時間は発色試液を添加後吸光度測定までの時間を示す。  
表内数値は、505 nm に於ける吸光度(セル厚10 mm)を示す。

第3表 測定値の比較

試料No.	A	B
1	155.00	204.00
2	277.00	322.00
3	43.00	103.00
4	103.00	142.00
5	105.00	133.00
6	151.00	188.00
7	235.00	268.00
8	239.00	267.00
9	193.00	259.00
10	61.00	184.00
11	88.00	125.00
平均値	150.00	199.54

(注)表内数値はトリグリセライドA mg/dlを示す。

— 17 —

第3表及び第1図の結果からも明らかのように、従来法では試料中の遊離トリセリンをトリグリセライドとして測定しているため、高値を示している。

第1表 遊離トリセリンの除去結果

測定法	0	3mg	5mg	10mg
1	A	404	407	400
	B	423	459	471
2	A	52	63	53
	B	64	91	109
3	A	77	77	76
	B	92	119	141

(注)Aは、本発明に係る測定法、Bは、本発明に係る前処理液の代りに蒸留水を用いる方法を示す。表内数値はトリグリセライドのmg/dlを示す。

第2表 試薬ブランク値

経過時間	0	10	30	60分
A	0.027	0.030	0.031	0.038
B	0.017	0.025	0.020	0.023

— 16 —

第4表 イスコルビン酸の処理除去結果

測定法	0 mg/dl	10 mg/dl	20 mg/dl	30 mg/dl	40 mg/dl	50 mg/dl
A	191	191	190	191	191	190
B	198	165	180	95	71	43

(注)表内数値はトリグリセライドのmg/dlを示す。

## 4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の方法と従来法との相関図である。

縦軸及び横軸は、それぞれ、各々の方法に於ける試料中のトリグリセライド(TG)濃度(mg/dl)を示す。

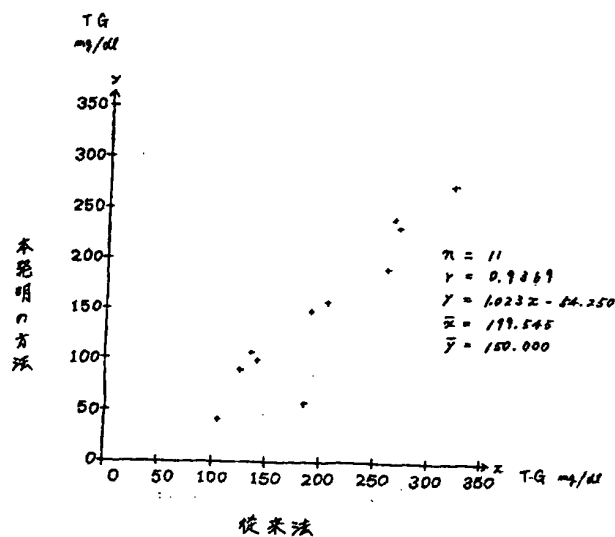
特許代理人 和光純薬工業株式会社

— 18 —



## 手続補正書

## 第 1 図



昭和56年3月2日

特許庁長官 殿

## 1. 事件の表示

昭和56年2月20日提出の特許願

## 2. 発明の名称

トリグリセライドの定量方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

郵便番号 541

住所 大阪府大阪市東区道修町3丁目10番地  
 連絡先 TEL 03-270-8571

名称 和光純薬工業株式会社

代表者 一 力 一 生

## 4. 補正命令の日付

自発



## 5. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄。

## 6. 補正の内容

明細書14頁～18頁の序言(別紙のとおり)。

以下に実施例を述べる。

## 実施例

前処理液：過ロウ素酸 ( $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 0.04 g を蒸留水に溶かして 100 ml とする (0.00175 M/l) ・ PH は 2.87 である。

発色試液：リボプロテインリパーゼ 3500 単位、グリセロキナーゼ 200 単位、グリセロール-3-リン酸オキシターゼ 120 単位、ペルオキシターゼ 200 単位、アデノシン三リン酸ナトリウム 100 mg、4-アミノアンチピリン 9 mg、p-クロロフェノール 70 mg、酢酸マグネシウム 4 mM、トリトン X 405 (Rohm and Haas Co.) 20 mg を PH 7.5 の 0.05 M トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン緩衝液 K とかして 100 ml とする。

血清トリグリセライドの測定操作法：血清 20  $\mu\text{L}$  をとり前処理液 0.6 ml を加えて 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温

水槽中に3分間放置後、発色試液2.5 mlを加えて10分間、37℃恒温水槽中に放置した後蒸留水を対照として505nmに於ける吸光度を測定する。血清20μlの代りに蒸留水20μlをとり、上記と同様に操作し、505nmの吸光度を測定する(試薬ブランク)。トリオレイン又はトリパルミテン200 mgにトリトンX 100 (Rohm and Haas Co.) 3 mlを加え加温溶解した後水を加えて激しく攪拌分散乳化させて100 mlとしたものを標準液とし、その20μlをとり、血清と同様に操作して吸光度を測定する。

血清の吸光度、標準液の吸光度からそれぞれ試薬ブランクの吸光度を差し引いた吸光度の比から血清試料中のトリグリセライド値を算出する。

結果を第1表～第4表に示す。第3表には本発明に係る方法と従来法による同一試料の比較測定値が、第1図には両方の相関図が示されている。

- 15 -

(注) 経過時間は発色試液を添加後吸光度測定までの時間を示す。

表内数値は、505nmにおける吸光度(セル層厚10mm)を示す。

第3表 測定値の比較

測定法 No.	A	B
1	155.00	204.00
2	277.00	322.00
3	43.00	103.00
4	103.00	142.00
5	105.00	133.00
6	151.00	188.00
7	235.00	268.00
8	239.00	267.00
9	193.00	259.00
10	61.00	184.00
11	88.00	125.00
平均値	150.00	199.54

(注) 表内数値はトリグリセライドのmg/dlを示す。

- 17 -

第3表及び第1図の結果からも明らかなように、従来法では試料中の遊離グリセリンをトリグリセライドとして測定しているため、高値を示している。

第1表 遊離グリセリンの除去効果

経過時間 測定法	0	3mg	5mg	10mg
1	A 404	407	400	400
	B 423	459	471	520
2	A 52	53	53	52
	B 64	91	109	159
3	A 77	77	76	77
	B 92	119	141	189

(注) Aは、本発明に係る測定法、Bは、本発明に係る前処理液の代りに蒸留水を用いる方法を示す。表内数値はトリグリセライドのmg/dlを示す。

第2表 試薬ブランク値

経過時間 測定法	0	10	30	60分
A	0.027	0.030	0.031	0.038
B	0.017	0.025	0.020	0.023

- 16 -

第4表 アスコルビン酸の影響除去効果

経過時間 測定法	0 mg/dl	10mg/dl	20mg/dl	30mg/dl	40mg/dl	50mg/dl
A	191	191	190	191	191	190
B	198	165	130	95	71	43

(注) 表内数値はトリグリセライドのmg/dlを示す。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の方法と従来法との相関図である。

縦軸及び横軸は、それぞれ、各々の方法に於ける試料中のトリグリセライド(TG)濃度(mg/dl)を表わす。

特許出願人 和光純薬工業株式会社

- 18 -